

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭62-100641

⑪ Int. Cl.<sup>4</sup>G 01 N 15/14  
21/53

識別記号

庁内整理番号

A-7246-2G  
7458-2G

⑬ 公開 昭和62年(1987)5月11日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 粒子解析装置

⑯ 特 願 昭60-241004

⑰ 出 願 昭60(1985)10月28日

⑱ 発 明 者 多 胡 晃 川崎市中原区今井上町53番地 キャノン株式会社小杉事業  
所内⑲ 発 明 者 湯 口 直 樹 川崎市中原区今井上町53番地 キャノン株式会社小杉事業  
所内

⑳ 出 願 人 キャノン株式会社 東京都大田区下丸子3丁目30番2号

㉑ 代 理 人 弁理士 日比谷 征彦

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

粒子解析装置

## 2. 特許請求の範囲

1. フローセルの流通部内を流れるサンプル液に流径測定用の光源からの照射光を照射する照射光学系と、前記流径測定用の光源からの照射光により照射されたサンプル液の流径を測定する流径測定手段とを具備したことを特徴とする粒子解析装置。

2. 前記流径測定手段は流径を観察する観察光学系内に設け、該観察光学系内の前記流通部と共役な位置に流径測定用焦点ガラス板を配置したことを特徴とする粒子解析装置。

3. 前記焦点ガラス板に目盛を付して該目盛を読み取ることにより流径を測定するようにした特許請求の範囲第2項に記載の粒子解析装置。

4. 前記焦点ガラス板を移動してその移動量により流径を測定するようにした特許請求の範囲第

2項に記載の粒子解析装置。

5. 前記焦点ガラス板の移動はマイクロメータで行うようにした特許請求の範囲第3項に記載の粒子解析装置。

6. 前記焦点ガラス板の移動量を、位置検出器により測定し、その移動量を表示器に表示するようにした特許請求の範囲第4項に記載の粒子解析装置。

## 3. 発明の詳細な説明

## 〔産業上の利用分野〕

本発明は、フローサイトメータ等において、フローセル内の流通部を流れるサンプル液の流径の測定を可能とした粒子解析装置に関するものである。

## 〔従来の技術〕

フローサイトメータとは、高速で流れる細胞や微粒、即ちサンプル液に例えばレーザービームを照射し、その散乱光及び蛍光による光電信号を出力し、細胞の性質、構造等を解析する装置であり、細胞化学・血液学・腫瘍学・遺伝学等の分野

で使用されている。

検体粒子はサンプル液中に浮遊し、このサンプル液は流体力学的焦点合わせの原理に基づき、シース液に包まれノズル、フローセルの中を層流の性質を保ちながら流れている。このサンプル液及びシース液をノズル、フローセルの中を高速で流すために、サンプル液、シース液はそれぞれ加圧されており、サンプル液はシース液よりも若干高く加圧されている。サンプル液の流径は、サンプル液に加えらるる圧力とシース液に加えらるる圧力の差によって変化し、圧力差が大きくなると流径は大きくなり、逆に圧力差が小さくなると流径は小さくなることが知られている。

ここで、検体粒子の大きさに比べサンプル液の流径が大きい場合には、検体粒子の通過位置はサンプル液の中で左右にふらつきを生ずる。また、検体粒子に照射されるレーザービームの光強度分布は、ガウス分布状の光強度分布を呈するので、同一の検体粒子であっても検体粒子の通過位置にふらつきが生ずると、照射光強度が変化するため

に検体粒子から得られる光電信号に差が生じ、精度の高い測定が困難となる。また、逆に検体粒子の大きさに比べて流径が細い場合には、測定精度は高くなるが単位時間当りの検体粒子の通過個数が少なくなり、解析精度が低下して良好な解析結果が得難くなる。従って、効率良く高精度の測定を行うためには、流径を検体粒子の大きさとほぼ等しくすることが望ましい。

従来において、サンプル液、シース液に加えらるるそれぞれの圧力は、検体粒子の単位時間当りの通過個数を計測し、その個数が一定の値となるように調整されている。この方法に基づく計測では、検体粒子の単位時間当りの通過個数は、サンプル液中の検体粒子濃度に左右され、濃度が薄い場合には検体粒子の単位時間当りの通過個数を増加するために、サンプル液にかける圧力を高くし、その流径を大きくしなければならなくなる。しかし流径が大きくなると、前述のように検体粒子の通過位置にふらつきが生じて精度の高い計測が困難となる。

#### 【発明の目的】

本発明の目的は、サンプル液中の検体粒子濃度に左右されることなく、効率良く高精度の粒子解析を行うために、サンプル液の流径を測定する手段を備えた粒子解析装置を提供することにある。

#### 【発明の概要】

上述の目的を達成するための本発明の要旨は、フローセルの流通部内を流れるサンプル液に流径測定用の光源からの照射光を照射する照射光学系と、前記流径測定用の光源からの照射光により照射されたサンプル液の流径を測定する流径測定手段とを具備したことを特徴とする粒子解析装置である。

#### 【発明の実施例】

本発明を図示の実施例に基づいて詳細に説明する。

第1図は光学系の構成図であり、フローセル1内の流通部2をサンプル液がシース液に包まれて層流状態を保ちながら、紙面に垂直な方向に流れ

ている。サンプル液とシース液はそれぞれ加圧されており、サンプル液はシース液よりも幾かに高く加圧されている。

流通部2を流れるサンプル液と直交するフローセル1の一方側に、フローセル1側からハーフミラー3、及び結像光学系4と検体粒子へ照射するレーザービームLを発するレーザー光源5から構成される照射光学系が配置されている。そして、フローセル1を挟む照射光学系と反対側に、ハーフミラー6、及びレーザービームLによる検体粒子からの前方散乱光を測定する対物レンズ7、絞り8、光電検出器9により構成される前方散乱光用の測光光学系が配置されている。また、検体粒子からの側方散乱光を測定するために、サンプル液5の流れの方向とレーザービームLの光軸方向の何れにも垂直な方向に、対物レンズ10、絞り11、光電検出器12により構成されている側方散乱光用の測光光学系が設けられている。更に、ハーフミラー3の反射側には凸レンズ13、タンダステン電球から成る光源14が配置され、ハ-

フミラー6の反射側には対物レンズ15、焦点ガラス板16、接眼レンズ17から構成される流径観察光学系が配置されている。そして、光源14と焦点ガラス板16は共役されている。なお、第2図に示すように焦点ガラス板16には、サンプル液Sの流径Wを測定するための目盛18が付されている。

前方散乱光用の測光光学系はレーザービームLによって散乱された検体粒子の前方散乱光を検出して検体粒子の大きさを求め、側方散乱光用の測光光学系は側方散乱光及び前光を検出し、検体粒子の性状等を測定する。

流径の測定に当っては、レーザー光源5からのレーザービームLを消灯して流径測定用の光源14を点灯すると、光束は凸レンズ13により点線で示すように平行光とされ、ハーフミラー3を介して流通部2を通過し、更にハーフミラー6、対物レンズ15を経て焦点ガラス板16に結像する。検者は接眼レンズ17を介して焦点ガラス板16の目盛18を目視することにより、シース液

の流通部2の通過位置のばらつきはなくなり、精度の高い解析が可能となる。

逆に、検体粒子Pに比べてサンプル液Sの流径Wが小さい場合には、単位時間当りの検体粒子Pの流通部2の通過個数が少なくなり、解析速度が低下してくる。この場合には、サンプル液Sに加える圧力を大きくするか、又はシース液Cへの加圧を小さくする等の方法を用いて、サンプル液Sとシース液Cとの圧力差を増大させることにより、サンプル液Sの流径Wを大きくすることができる。

サンプル液Sの流径Wの測定精度を更に向上させるためには、焦点ガラス板16の表面に第3図に示すような二重線19を刻設し、この焦点ガラス板16を図示しないマイクロメータにより移動できるようにしておくこととよい。測定に際しては、先ず二重線19の部分をサンプル液Sの右縁部Aに合致させ、このときのマイクロメータの読みをaとする。次に、マイクロメータにより焦点ガラス板16を第3図の矢印の方向に移動し、二重線

Cによって包まれたサンプル液Sの流径Wを読み取ることができる。第2図(a)においては、サンプル液Sの流径Wは検体粒子Pの大きさに比べて大きくくなっているため、検体粒子Pの通過位置はサンプル液S内でふらつきが生ずる。

散乱光の測定時において、レーザービームLの照射光強度分布は(b)に示すようにガウス分布であり、検体粒子Pがサンプル液Sの中心部を通過する場合と縁部を通過する場合では、レーザービームLの検体粒子への照射光強度に差が生ずるために、検体粒子Pの反射光から得られる光電信号に差が生ずることになり、精度の高い測定が困難となる。

サンプル液Sの流径Wが検体粒子Pの径よりも大きくなった場合には、サンプル液Sへの加圧を小さくするか、或いはシース液Cへの加圧を大きくするか、双方の補正が考えられるが、サンプル液Sに加える圧力とシース液Cへ加える圧力の差を小さくして、検体粒子Pの直径とサンプル液Sの流径Wを一致させるようにすれば、検体粒子P

19をサンプル液Sの左縁部Bに合致させて、このときのマイクロメータの読みをbとすれば、サンプル液Sの流径Wは(b-a)で表すことができ、より正確に流径Wを測定できることになる。

第4図は焦点ガラス板16の目盛18やマイクロメータによる数値の読み取りではなく、機械的に測定する場合の構成図である。焦点ガラス板16を操作する操作レバー20に位置検出器21が取り付けられており、この位置検出器21と移動距離に比例したパルス信号を発信するパルス発信器22との共働によって、焦点ガラス板16の移動距離が計測できる。

この場合にサンプル液Sの流径Wを測定するには、第3図に示す二重線19をサンプル液Sの右縁部Aに合致させ、この時点でリセットスイッチ23を入れ、リセット回路24を介して計数回路25を初期状態にリセットしておく。次に、二重線19をサンプル液Sの左縁部Bまでマイクロメータを用いて移動させる。このとき、縁部Aか

らBまでの移動距離に比例したパルス数がパルス発信器22から出力され、このパルス数を計数回路25で計数することにより移動距離が求まり、高精度に流径Wの測定が可能となる。更に、計数結果を表示回路26を介して表示器27で表示することも可能である。

第5図は流径測定用光束の光軸とサンプル液Sとの合軸状態を示しており、視野内ではサンプル液Sは中心部分を流れている。粒子解析を行う場合には、サンプル液Sと光軸とをこのように合軸状態にセットしておくことが望ましい。

一方、第6図においては、光軸とサンプル液Sとの非合軸状態を示し、サンプル液Sの流れの中心は視野の中心よりもΔだけ、つまり光軸とΔだけずれていることが容易に確認できる。

実施例においては、流径測定用の光源14としてタンクステン光源を用いたが、レーザー光源5からのレーザービームLであっても、フィルタなどにより減光することにより適用可能である。また、レーザービームLを利用し、一次元光電検出

器を用いて得られる流径のパターンから光電的にサンプル液Sの流径を測定してもよい。

#### 〔発明の効果〕

以上説明したように本発明による粒子解析装置は、サンプル液の流径を容易に測定可能であるため、流径を最適径に調整することが可能であり、検体粒子の測光部の通過位置のふらつきを最小に押えることができるので、高精度の粒子解析が可能となる。

#### 4. 図面の簡単な説明

図面は本発明に係る粒子解析装置の実施例を示し、第1図は光学系の構成図、第2図、第3図はサンプル液の流径の観察状態の説明図、第4図は焦点ガラス板の移動距離観察表示系のブロック回路構成図、第5図、第6図は流径測定用光束の光軸とサンプル液の流れの中心との位置関係の説明図である。

符号1はフローセル、2は流通部、3、8はハーフミラー、5はレーザー光源、13は凸レンズ、14は光源、15は対物レンズ、16は焦点

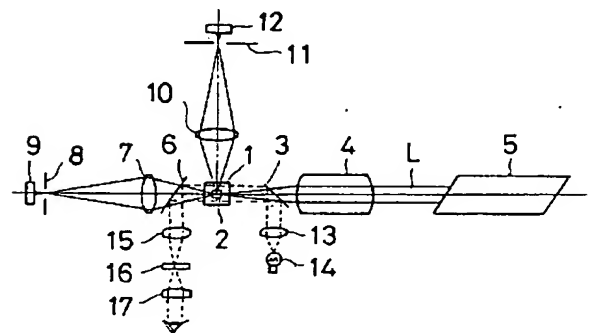
ガラス板、17は接眼レンズ、18は目盛、19は二重線、21は位置検出器、22はパルス発信器、27は表示器、Sはサンプル液、Pは検体粒子である。

特許出願人 キヤノン株式会社

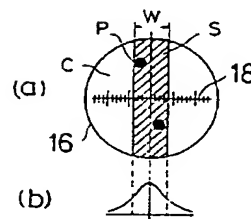
代理人 弁理士 日比谷 征



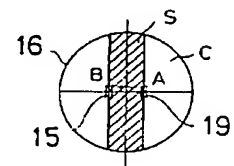
第1図



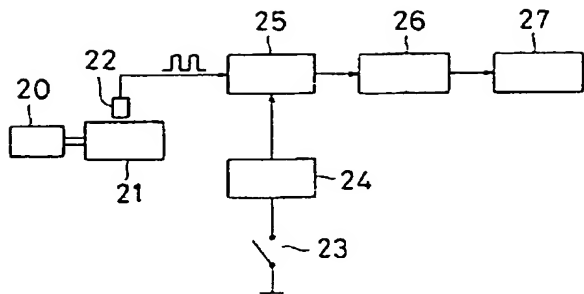
第2図



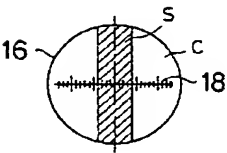
第3図



第4図



第5図



第6図

